



TITLE:

Sporadic on/off switching of HTLV-1 Tax expression is crucial to maintain the whole population of virus-induced leukemic cells( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Mohamed, Mahgoub Mohamed Ahmed Mohamed

---

CITATION:

Mohamed, Mahgoub Mohamed Ahmed Mohamed. Sporadic on/off switching of HTLV-1 Tax expression is crucial to maintain the whole population of virus-induced leukemic cells. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21021>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	Mohamed Mahgoub Mohamed Ahmed Mohamed
論文題目	Sporadic on/off switching of HTLV-1 Tax expression is crucial to maintain the whole population of virus-induced leukemic cells (HTLV-1 Tax の散発的な一過性発現はウイルス性白血病細胞の集団の維持に必要である)		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>がんウイルスは宿主免疫の存在下で持続感染を確立し感染細胞をがん化する。ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型（HTLV-1）は主に CD4 陽性 T リンパ球に感染し、成人 T 細胞白血病（ATL）を引き起こす。HTLV-1 がコードする Tax はウイルスの複製に必須のトランスアクチベーターであるだけでなく、強力ながんタンパク質である。しかし ATL 細胞での発現レベルが非常に低いことから、発がんにおける意義は明らかでなかった。</p> <p>ATL 細胞株 MT-1 と KK-1 は、新鮮 ATL 細胞と同様に非常に低いレベルの Tax を発現することが知られていた。本研究にて MT-1 及び KK-1 のごく一部の細胞（0.05~3%）が Tax を発現していることを見出した。Tax の発現動態を解析するために Tax が不安定型 EGFP（d2EGFP）の発現を誘導するレポーター細胞 MT1GFP と KK1GFP を作成した。MT1GFP を用いたタイムラプス解析により、Tax は多くの場合一過性に発現し、一回の発現持続時間は平均 19 時間であることが明らかになった。Tax のノックダウンは速やかにアポトーシスを誘導し、約 3 週間で殆どの細胞が消失した。この結果は、ごく一部の細胞に短時間発現する Tax が MT-1 の維持に必須であることを示しており、Tax は発現細胞のみならず、発現を失っている細胞の生存にも関与することを示唆していた。加えて、Tax は過増殖や酸化ストレス暴露など様々なストレス下で誘導されたことから、一過性の Tax 発現はストレスによる細胞死回避にも作用すると考えられた。少数の Tax 発現細胞による細胞集団の維持機構を明らかにすることを目的とし MT1GFP 及び KK1GFP から Tax 発現細胞と非発現細胞を純化し RNA-seq を行った。その結果、Tax 発現細胞では多数の NF-κB 経路関連遺伝子や抗アポトーシス遺伝子が発現亢進していることが判明した。RNA-seq にて差を見出した遺伝子の中から 90 種類を抽出し、シングルセル定量 PCR を施行したところ、予想通り Tax 発現細胞に高発現を認めた。主成分分析の結果、Tax 非発現細胞の中に抗アポトーシス遺伝子の発現が低い細胞群と軽度発現上昇している細胞群が存在することが判明した。これらの所見から、MT-1 は Tax の発現が消失した後も、その効果が持続することにより抗アポトーシス形質を維持し、結果として集団の維持を可能にしていると推定した。本仮説に関して、数理モデルとコンピューターシミュレーションによる検証を行い、Tax ノックダウンにより観察された現象を再現できることが明らかとなった。</p> <p>Tax は免疫原性が高く宿主免疫の主な標的であり、また恒常的な Tax 発現は、がん遺伝子誘導性の細胞老化を誘導する。本研究で HTLV-1 感染細胞は Tax の発現を最小限に抑えることで、免疫を回避し感染細胞のアポトーシスを抑制するがストレス環境下では Tax を誘導しウイルス複製の活性化による新規感染の拡大を促進するという HTLV-1 の巧妙な生き残り戦略が明らかになった。</p>			

（論文審査の結果の要旨）
<p>ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型（HTLV-1）がコードする Tax はウイルスの複製に必須であり、発がん作用を有する。しかし、細胞傷害性 T リンパ球の主な標的であり成人 T 細胞白血病（ATL）細胞での発現も非常に低いことから発がんにおける意義は不明であった。</p> <p>ATL 細胞株 MT-1 のごく一部の細胞（0.05~3%）が Tax を発現していることを見出した。Tax により不安定型 EGFP を発現するレポーター細胞を作成しタイムラプス解析を行ったところ、Tax は一過性に発現していた。Tax の発現抑制はアポトーシスを誘導し約 3 週間で殆どの細胞が消失した。Tax は様々なストレス下で誘導され、一過性の Tax 発現はストレスによる細胞死回避に寄与すると考えられた。シングルセル発現解析の結果、Tax 発現細胞では NF-κB 経路関連遺伝子や抗アポトーシス遺伝子が発現亢進しており Tax 非発現細胞の中に抗アポトーシス遺伝子の発現が異なる集団が存在していた。これらの結果から MT-1 は Tax が消失した後も、その効果が持続することにより集団の維持を可能にしていると推測された。本仮説に関して数理モデルとコンピューターシミュレーションによる検証を行い Tax ノックダウンにより観察された現象を再現できることが明らかとなった。</p> <p>以上の研究は HTLV-1 の持続感染機構の解明に貢献し HTLV-1 研究に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 3 0 年 3 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>